

Wprowadzenie

Choroby dziedziczone jednogenowo, które prowadzą do powstania udaru mózgu, stanowią niewielki odsetek wszystkich udarów. Zazwyczaj ich fenotyp jest nie do odróżnienia od fenotypu przypadków sporadycznych, jednak są pewne cechy, które pozwalają na podejrzewanie rodzinnej postaci udaru. W takich przypadkach choroba ujawnia się już u dzieci lub u młodych dorosłych, często występuje wśród członków rodziny i nierzadko współistnieje z innymi chorobami neurologicznymi (migrena, padaczka) lub objawami choroby systemowej. Dość często osoby z udarem będącym wynikiem choroby dziedzicznej jednogenowo nie mają charakterystycznego wyniku neuroobrazowania. Stwierdzenie genetycznego uwarunkowania choroby pozwala na obecnym etapie wiedzy na zaproponowanie w niektórych przypadkach terapii, która może spowolnić naturalny przebieg choroby, np. α -galaktozydaza A w chorobie Fabry'ego czy przetoczenia krwi w anemii sierpowatokrwinkowej. Pozwala również na zaproponowanie strategii prewencji (np. zaprzestanie stosowania środków antykoncepcyjnych przez nosicielkę mutacji G20210A genu protrombiny lub mutacji czynnika V Leiden wielokrotnie zmniejsza ryzyko zachorowania na zakrzep żył lub zatorów żylnych mózgu) lub na wdrożenie poradnictwa genetycznego.

Innym kierunkiem badań genetycznych w udarze jest poszukiwanie genów ryzyka choroby. Konwencjonalne naczyniowe czynniki ryzyka są odpowiedzialne za ryzyko choroby tylko w 40–50%. Pozostałą komponentę ryzyka stanowią czynniki genetyczne. Ich znaczenie zostało udokumentowane w licznych badaniach epidemiologicznych na parach bliźniąt, badaniach kohortowych i badaniach kliniczno-kontrolnych. Kilkanaście lat temu badania w poszukiwaniu genetycznych czynników ryzyka udaru były prowadzone bardzo prosto, tzn. porównywano częstość pojedynczego wariantu genetycznego konkretnego genu w grupie chorych i dobranej grupie zdrowych osób. Analizowano zwykle tylko polimorfizmy funkcjonalne, np. wpływające na różną aktywność enzymu. Taka stra-

tegia nie pozwalała jednak na znalezienie wszystkich polimorfizmów zaangażowanych w ryzyko choroby. Późniejsze badania udokumentowały, że ryzyko różnych chorób, nie tylko udaru mózgu, bardzo często jest związane z wariantami genetycznymi w rejonach niekodujących, a nie z wariantami funkcjonalnymi. Warianty genetyczne w rejonach niekodujących kontrolują ekspresję genów lub *splicing*. Przeszukiwanie całego genomu w celu znalezienia wariantów genetycznych zaangażowanych w ryzyko rozwoju udaru mózgu od niedawna umożliwia wykorzystanie haplomapy (*HapMap project*). Ta strategia pozwala na zidentyfikowanie haplotypów, które mają związek z chorobą, a następnie na poszukiwanie wariantów genetycznych zaangażowanych w ryzyko choroby już w obrębie konkretnego haplotypu. Na pewno ta metoda zwielokrotnia szanse znalezienia genów ryzyka choroby, jednak jest jeszcze bardzo kosztowna.

Od kilku lat poszukiwania genów ryzyka udaru mózgu prowadzone są na podstawie analizy sprzężeń. Jest ona niezależna od hipotezy badawczej – pozwala na zlokalizowanie genu związanego z chorobą, a następnie jego sklonowanie. Takie podejście zaowocowało wykryciem w 2003 r. przez badaczy islandzkich związku wariantów genetycznych genu fosfodiesterazy 4D (*PDE4D*) z ryzykiem udaru niedokrwinnego. Niestety, zidentyfikowanie wielu rodzin obciążonych ryzykiem udaru jest mało realne, co wynika z późnego ujawniania się choroby i, jak dotąd, tylko nieliczne grupy badawcze na świecie dysponują materiałem genetycznym przydatnym do takich badań.

Choroby uwarunkowane genetycznie jako przyczyna udaru

Udary mózgu w przebiegu chorób dziedziczonych jednogenowo dają najczęściej obraz kliniczny udaru spowodowanego zatorem pochodzenia sercowego, chorobą dużych naczyń i chorobą małych naczyń. Mogą też manifestować się zakrzepem żył i zatorom żylnym.

Udar spowodowany zatorom pochodzenia sercowego może wystąpić w przebiegu dziedzicznych chorób serca. Zalicza się do nich m.in. rodzinny śluzak przedsionka (Ekinci, Donnan, 2004), rodzinne zaburzenia rytmu serca (Goerss i wsp., 1995) i wrodzone kardiomiopatie (Oberiti i wsp., 2004). Udar sercowo-zatorowy może wystąpić także w przebiegu dystrofii mięśniowej Duchenne'a (Diaz i wsp., 2004), w której oprócz objawów osłabienia i zaniku mięśni prążkowanych występują objawy upośledzonej czynności mięśnia sercowego.

Udar spowodowany chorobą dużych naczyń może ujawnić się u osób z homocystynurią czy dyslipidemiami. **Homocystynuria** jest chorobą wywołaną różnymi defektami enzymatycznymi prowadzącymi do wzrostu stężenia homocysteiny w surowicy i w moczu, np. niedoborem syntazy β -cystationiny i reduktazy metylenotetrahydrofolianowej. Najczęstszy jest defekt syntazy β -cystationiny, enzymu odpowiedzialnego za przemianę homocysteiny w cystationinę (Yap, 2003). Gen dla homocysteiny jest zlokalizowany na chromosomie 21q22.3 (Munke i wsp., 1988). Opisano dotychczas ok. 100 mutacji w obrębie tego genu. Choroba ujawnia się u homozygot z częstością 1 : 344 000. Klinicznie charakteryzuje ją ektopia soczewki, osteoporoza, opóźnienie rozwoju i powikłania zakrzepowo-zatorowe, w tym udar niedokrwienny mózgu. Ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych do 20. r.ż. wynosi 30%, do 30. r.ż. – 50%; w 30% jest to udar niedokrwienny mózgu. Niedobór syntazy β -cystationiny charakteryzuje dwa rodzaje fenotypu: wrażliwy lub niewrażliwy na leczenie pirydoksyną (Mudd i wsp., 1985). Ten drugi fenotyp charakteryzuje znacznie cięższy przebieg choroby.

Wśród dziedzicznych dyslipidemii prowadzących do przedwczesnej miażdżycy i udaru w przebiegu choroby dużych naczyń wymienia się np. rodzinną hipoalfalipoproteinemię, rodzinną hipercholesterolemię typu II i IV (Hassan, Markus, 2000).

Udary mózgu dające obraz kliniczny choroby małych naczyń stwierdza się w przebiegu zespołu **CADASIL** (ang. *Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy*), choroby dziedziczonej autosomalnie dominująco (Tournier-Lasserre i wsp., 1993). Dotychczas opisano ok. 500 rodzin z tą chorobą. Zwykle ujawnia się ona w trzeciej dekadzie życia w postaci migreny z aurą, w czwartej pojawiają się udary mózgu, a ośpienie naczyńnopochothane – w szóstej (Joutel i wsp., 1997). W diagnostyce zespołu CADASIL wykorzystuje się badanie biopsyjne skóry. W mikroskopie elektronowym obecne są depozyty ziarnistości osmofilnych (ang. *GOM*). Czułość badania tą metodą wynosi 45%, a swoistość – 100%. Badanie immunohistochemiczne oceniające obecność przeciwciał przeciwko białku Notch 3 ma czułość 96% i swoistość 100% (Markus i wsp., 2000). W obrazie rezonansu magnetycznego,

w obrazach T2-zależnych mogą ujawnić się liczne udary lakunarne i zmiany istoty białej okołokomorowej (Kalaria i wsp., 2004). Zmiany istoty białej w pierwszej kolejności są zlokalizowane w torebce zewnętrznej i w biegunie przednim płata skroniowego. Zmiany istoty białej pojawiają się w trzeciej dekadzie życia, zawały lakunarne w czwartej, a mikrokrwotoki w piątej dekadzie życia (van den Boom i wsp., 2003). Warto zaznaczyć, że zmiany istoty białej są obecne u wszystkich chorych już ok. 35. r.ż. 100% pewność diagnostyczną dają badania genetyczne. Opisano ok. 100 mutacji w obrębie genu *notch 3*, najczęściej (75%) występują one w egzonie 4 i 3 (Hassan, Markus, 2000). Produktem genu jest białko przezbłonowe, zlokalizowane przede wszystkim w komórkach mięśni gładkich naczyń, którego funkcja polega na przekazywaniu sygnałów między komórkami (Joutel, Tournier-Lasserre, 1988).

Objawy neurologiczne podobne do zespołu CADASIL występują w zespole dziedzicznej endoteliopatii z retinopatią, nefropatią i udarem mózgu (ang. *Hereditary Endotheliopathy with Retinopathy, Nephropathy and Stroke*, HERNs). Choroba dziedziczy się autosomalnie dominująco, *locus* genu tej choroby znajduje się na chromosomie 3p21.1-p21.3. Pierwsze objawy to zazwyczaj upośledzenie widzenia i zaburzenia funkcji nerek (Ophoff i wsp., 2001).

Do chorób dziedziczonych jednogennowo, które mogą manifestować się udarem mózgu, należy także **choroba Fabry'ego**, dziedziczona recesywnie z chromosomem X. Mutacja w obrębie genu dla α -galaktozydazy A prowadzi do niedoboru tego enzymu (Masson i wsp., 2004) i do odkładania się glikosfingolipidów, m.in. w śródbłonku naczyń (Masson i wsp., 2004). Udar niedokrwienny mózgu w przebiegu choroby Fabry'ego dotyczy 24% chorych. Myślenie o rozpoznaniu choroby Fabry'ego wzmacnia dość typowy wywiad. Już we wczesnym dzieciństwie u hemizygotycznych mężczyzn i heterozygotycznych kobiet z chorobą Fabry'ego występują napadowe, dokuczliwe bóle dłoni i stóp, bóle brzucha, biegunki, często ze skokami gorączki. Dzieci te charakteryzuje także zła tolerancja na zmiany temperatury, suchość skóry i upośledzenie potliwości. W trzeciej dekadzie życia ujawnia się niewydolność nerek i objawy niewydolności krążenia. W badaniu stwierdza się charakterystyczne rysy twarzy dla osób dotkniętych tą chorobą: grube wargi, duży „kartoflany nos”, zmiany o typie *angiokeratoma* na skórze, w miejscach podwyższonej temperatury (MacDermot i wsp., 2001). W badaniu rezonansu magnetycznego stwierdza się niecharakterystyczne zmiany w postaci hiperintensywnych zmian okołokomorowych w czasie T2 (Masson i wsp. 2004).

Diagnozę potwierdza badanie aktywności enzymu (niediagnostyczne u heterozygotycznych kobiet) i bada-

nie genetyczne. Terapię stanowi suplementacja enzymu α -galaktozydazy A (Masson i wsp., 2004).

Zespół udaropodobny mózgu może również ujawnić się w przebiegu miopatii mitochondrialnych, w tym zespołu MELAS (ang. *Mitochondrial Encephalopathy with Lactic Acidosis and Stroke-like Episodes*) (Meschia i wsp., 2005). U osób z zespołem MELAS w dzieciństwie stwierdza się dość niecharakterystyczne objawy, np. męczliwość i bóle mięśni, nietolerancję wysiłku, czasem bóle migrenowe z nudnościami i wymiotami. Objawy udaru mózgu pojawiają się w trzeciej lub w czwartej dekadzie życia i zwykle są skutkiem uszkodzenia tylnych obszarów mózgu. Dość często pierwszym objawem jest oślepienie. Rezonansem magnetycznym stwierdza się hiperintensywne obszary niepokrywające się z obszarem unaczynienia poszczególnych tętnic wewnątrzczaszkowych. Spektroskopia rezonansu magnetycznego pozwala wykazać obecność kwasicy mleczanowej w mózgu. Zmiany w rezonansie magnetycznym mogą samoistnie wycofywać się wraz z ustępowaniem objawów ogniskowych.

Udary niedokrwienne mózgu bardzo rzadko mogą występować w przebiegu chorób tkanki łącznej, np. zespołu Ehlersa-Danlosa (North i wsp., 1995) czy zespołu Marfana (Touze, Gauvrit 2002).

Udar mózgu może wystąpić u osób z obecnością genetycznie uwarunkowanych stanów nadkrzepliwości. Najczęstsze z nich to niedobór naturalnych antykoagulantów, np. białka S, C, antytrombiny III, a także mutacja G1691A czynnika V (mutacja Leiden) oraz G20210A protrombiny (Thomas, 2001). Wrodzone stany nadkrzepliwości charakteryzuje brak predylekcji do określonej etiologii udaru tętniczego, dość często występują u tych osób udary w przebiegu zakrzepicy żyłnej.

Metaanaliza badań oceniających znaczenie mutacji czynnika V Leiden i polimorfizmu G20210A genu protrombiny wykazała, że oba te polimorfizmy są zaangażowane w ryzyko udaru niedokrwiennego. Przynajmniej jeden allel A genu czynnika V Leiden (OR = 1,33, 95% CI: 1,22–1,58, $p = 0,03$) i przynajmniej jeden allel A genu protrombiny (OR = 1,44, 95% CI: 1,11–1,86, $p = 0,006$) wyraźnie zwiększają ryzyko choroby (Lalouschek i wsp., 2005).

Inne rzadkie choroby dziedziczone jednogennie, niewystępujące w Polsce, choroby powodujące udar mózgu to anemia sierpowatokomórkowa i rodzinne amyloidowe angiopatie, np. dziedziczny krwotok mózgowy z amyloidozą typu holenderskiego, rodzinna angiopatia amyloidowa związana z cystatyną-C, rodzinna polineuropatia amyloidowa (Hassan, Markus, 2000).

Genetyczne czynniki ryzyka udaru

Dowody na istnienie genetycznych czynników ryzyka udaru mózgu pochodzą z badań bliźniąt oraz badań rodzin chorych na udar. Wyniki najważniejszego badania bliźniąt ukazały się w 1992 r. (Brass i wsp., 1992). Przeanalizowanie danych na temat występowania udaru mózgu zebranych od 2722 par bliźniąt zarejestrowanych w USA w latach 1917–1927 (ang. *National Academy of Science-National Research Council Twin Registry*) wykazało, że ryzyko względne zachorowania na udar u obu bliźniąt monozygotycznych jest 4,3 razy większe niż u obu bliźniąt heterozygotycznych i wynosi odpowiednio: 17,7% i 3,6%. W badaniu tym udokumentowano, że istnieją czynniki genetyczne zwiększające ryzyko udaru, choć liczba par bliźniąt, które zachorowały na udar, była zbyt mała, aby ocenić, jak duże jest znaczenie predyspozycji genetycznych do zachorowania na tę chorobę. Przeanalizowanie zapadalności na udar w tej samej grupie chorych 10 lat później nie wykazało już znaczącej różnicy między bliźniętami mono- i heterozygotycznymi (liczba par bliźniąt, które zachorowały, wynosiła odpowiednio 11,3% i 10,2%), co świadczy o zwiększającej się wraz z wiekiem roli konwencjonalnych czynników ryzyka udaru (Brass i wsp., 1998).

Wyniki kilkunastu badań dotyczących ryzyka udaru mózgu u osób, których krewni przebyli udar, również w większości potwierdzają, że ryzyko udaru zwiększa się, jeżeli jedno z rodziców przebyło tę chorobę. W badaniu *Framingham Offspring Study* pokazano, że jeśli udar przebyła matka, to ryzyko względne u potomstwa wynosi 1,4%, a jeśli ojciec – to 2,4% (Kiely i wsp., 1993). Wyniki podobnych obserwacji opublikowali Graffagnino i wsp. (1994). Stwierdzili oni, że osoby z wywiadem rodzinnym w kierunku udaru mózgu lub choroby niedokrwiennej serca mają istotnie większe ryzyko zachorowania na udar mózgu. Znaczenie udaru u rodziców jako niezależnego czynnika zwiększającego ryzyko udaru u dzieci potwierdzili badacze fińscy. U kobiet, których rodzice przebyli udar, ryzyko wzrastało 1,8 razy, a u mężczyzn – 1,9 razy (Jousilahti i wsp., 1997). Autorzy ci potwierdzili również obserwacje z badań Brassa i wsp., mówiące o tym, że znaczenie czynnika genetycznego jest wyraźniejsze w młodszej grupie wiekowej (Brass i wsp., 1998). W opublikowanym ostatnio badaniu angielskim przeprowadzonym u 1000 chorych ze zidentyfikowaną etiologią udaru niedokrwiennego mózgu wykazano, że rodzinny wywiad w kierunku tej choroby jest czynnikiem ryzyka udaru spowodowanego chorobą dużych naczyń i chorobą małych naczyń oraz zwiększa to ryzyko dwukrotnie (Jerrard-Dunne i wsp., 2003).

Wiele badań wskazuje także na genetyczne uwarunkowania krwotoków podpajęczynówkowych z pęknięte-

go tętniaka. Autorzy japońscy wykazali ponad 4-krotnie większe ryzyko krwotoku podpajęczynówkowego u osób, których jedno z rodziców przeżyło krwotok podpajęczynówkowy (Okamoto i wsp., 2003). Badanie Brodericka i wsp. (2003) przeprowadzone wśród 312 pacjentów rekrutowanych w 44 szpitalach amerykańskich wykazało, że dodatni wywiad w kierunku krwotoku śródczaszkowego, w tym podpajęczynówkowego, wśród członków najbliższej rodziny zwiększa ryzyko krwotoku z pękniętego tętniaka 3 razy. Badania wśród członków rodzin obciążonych rodzinnymi postaciami krwotoku podpajęczynówkowego wskazują zarówno na autosomalny dominujący, jak i recesywny sposób dziedziczenia. Ostatnio opublikowane badania zlokalizowały *locus* dla genów predysponujących do tętniaka wewnątrzczaszkowego w populacji japońskiej na chromosomie 7q11 (Onda i wsp., 2001), a w populacji fińskiej na chromosomie 19q13.3 (van der Voet i wsp., 2004).

Badania amerykańskie wykazały również, że wywiad w kierunku krwotoku śródmózgowego wśród najbliższych krewnych zwiększa ryzyko tego rodzaju udaru mózgu aż 6-krotnie (Woo i wsp., 2002). Znaczenie wywiadu rodzinnego w kierunku krwotoku śródmózgowego jako czynnika ryzyka tej choroby jest większe w krwotokach płatowych niż w krwotokach o lokalizacji głębokiej.

Badania genetycznych czynników ryzyka udaru są prowadzone poprzez wykonanie analizy sprzężeń u członków rodzin, w których co najmniej dwie osoby mają udar, albo ocenę znaczenia tzw. genów kandydatów, czyli genów zaangażowanych w patofizjologię udaru. Pierwsza metoda jest niezależna, natomiast druga jest zależna od hipotezy badawczej.

Badania przeprowadzone na podstawie analizy sprzężeń u wielu rodzin islandzkich pozwoliły na zidentyfikowanie *locus* dla genu ryzyka udaru niedokrwiennego na chromosomie 5q12 i wykazały, że jest to gen fosfodiesterazy 4D (*PDE4D*) (Gretarsdottir i wsp., 2003).

Nie stwierdzono obecności funkcjonalnych mutacji w obrębie tego genu (Gretarsdottir i wsp., 2003). Wykazano natomiast występowanie w jego obrębie wielu polimorfizmów: w 44 przypadkach polimorfizmy pojedynczego nukleotydu, i w 2 – delecje w obrębie intronu. Wykazano, że u chorych z udarem niektóre haplotypy *PDE4D* występują częściej niż w grupie kontrolnej – „haplotypy ryzyka”, a niektóre, znacznie rzadziej – „haplotypy ochronne”. Nie wyjaśniono do końca, w jaki sposób obecność „haplotypów ryzyka” czy „haplotypów ochronnych” jest powiązana z ryzykiem udaru. Uważa się, że zmiana aktywności *PDE4D*, rozkładającej cAMP, wpływa na nasilenie procesów miażdżycowych (Palmer i wsp., 1998; Pan i wsp., 1994). Wysoka aktywność *PDE4D* obniża poziom cAMP w komórkach mięśni gładkich naczyń i powoduje ich proliferację oraz migrację, co jest zjawiskiem proaterogennym (Indolfi i wsp., 1997). Udoku-

mentowano, że „haplotypy ryzyka” zwiększają ryzyko udaru sercowo-zatorowego oraz spowodowanego chorobą dużych naczyń (Gretarsdottir i wsp., 2003) niezależnie od konwencjonalnych czynników ryzyka udaru. Nie stwierdzono takiego związku z udarem niedokrwiennym spowodowanym chorobą małych naczyń. W kolejnych badaniach na innych populacjach znaczenie wariantów genetycznych w obrębie genu *PDE4D* udało się udokumentować jedynie w pojedynczych przypadkach.

Badania genetycznych czynników ryzyka udaru mózgu u ludzi opierają się na ocenie znaczenia genów białek zaangażowanych w patofizjologię udaru mózgu, tzn. genów białek zaangażowanych w proces hemostazy, białek układu renina–angiotensyna–aldosteron, oraz genów białek zapalenia czy białek strukturalnych ściany naczynia.

W niniejszym opracowaniu zostaną omówione wyniki najważniejszych badań kliniczno-kontrolnych oceniających znaczenie różnych polimorfizmów genów białek zaangażowanych w patofizjologię udaru mózgu. Ich dobór był podyktowany możliwością wykorzystania wiedzy na temat ich znaczenia w planowaniu strategii terapii udaru mózgu.

Polimorfizmy genów białek zaangażowanych w proces krzepnięcia i fibrynolizy

Płytki krwi, obok białek biorących udział w procesie krzepnięcia i właściwości reologicznych krwi, są kluczowym elementem tworzenia się zakrzepu w ścianie uszkodzonego naczynia. Jest to proces kilkuetapowy. W pierwszej kolejności dochodzi do adhezji płytek krwi do białek macierzy podścieliskowej w miejscu uszkodzonego naczynia. W następnym etapie płytki ulegają aktywacji. Aktywowane płytki zmieniają swój kształt i przyłączają rozpuszczalne molekuly adhezyjne, które z kolei nasilają wzajemne przyleganie płytek (agregację płytek) i narastanie zakrzepu.

W każdym z etapów tworzenia się zakrzepu biorą udział receptory płytkowe. W szczególności proces ten przebiega następująco: po uszkodzeniu ściany naczynia, np. po pęknięciu blaszki miażdżycowej, dochodzi do adhezji płytek do zewnątrzkomórkowej macierzy. Jest to możliwe dzięki interakcji glikoproteiny Ib/V/IX z czynnikiem von Willebranda. Stabilizację adhezji umożliwia przyłączenie się glikoproteiny Ia/IIa do kolagenu, glikoproteiny IIb/IIIa do czynnika von Willebranda oraz glikoproteiny Ic/IIa do fibronektyny. W procesie aktywacji płytek dochodzi do uwalniania się zawartości ich wewnątrzkomórkowych ziarnistości, zawierających czynniki von Willebranda, fibrynogen i ADP, ekspresji aktywowa-

nej glikoproteiny IIb/IIIa oraz zwiększenia się ich aktywności prozakrzepowej. Przyłączenie się czynnika von Willebranda i fibrynogenu do aktywowanych płytek krwi powoduje agregację płytek, w czasie której dochodzi do interakcji glikoproteiny Ib z czynnikiem von Willebranda i połączenia się aktywowanej glikoproteiny IIb/IIIa z fibrynogenem (Reiner i wsp., 2001).

Glikoproteina IIb/IIIa (GpIIb/IIIa) jest receptorem zlokalizowanym na powierzchni płytek krwi, który składa się z kompleksu dwóch łańcuchów glikoproteiny IIb związanej niekowalencyjnie z jednym łańcuchem glikoproteiny IIIa (Calvete, 1994). Połączenie aktywnej postaci GpIIb/IIIa z fibrynogenem i czynnikiem von Willebranda stymuluje agregację płytek i prowadzi do stabilizacji zakrzepu na powierzchni śródbłonna. Geny kodujące glikoproteiny IIb i IIIa są zlokalizowane na chromosomie 17q21. Glikoproteinę IIIa charakteryzuje obecność izoformy PLA1 (HPA-1a) lub PLA2 (HPA-1b), co jest skutkiem obecności leucyny (Leu) lub proliny (Pro) w pozycji 33. Na poziomie genu odpowiada temu polimorfizm charakteryzujący się obecnością nukleotydu T lub C w pozycji 1565. Allel A2 (33Pro) genu glikoproteiny IIIa występuje u ok. 15% populacji ludzi rasy białej.

Glikoproteina IIb charakteryzuje się również obecnością dwu izoform (HPA-3a/3b), które są wynikiem występowania izoleucyny (Ile) lub seryny (Ser) w pozycji 843. Na poziomie genu tej zamianie aminokwasów odpowiada odpowiednio nukleotyd T lub G w egzonie 26. Polimorfizmy GpIIIa Leu 33Pro i GpIIb Ile843Ser nie wykazują równowagi sprzężeń.

Wielu autorów udokumentowało znaczenie allelu A2 genu *GpIIIa* jako czynnika ryzyka zawału mięśnia sercowego i choroby niedokrwiennej serca. Natomiast badania prowadzone u chorych z udarem niedokrwinnym mózgu bez rozróżniania jego etiologii nie potwierdziły związku między allelem A2 a ryzykiem tej choroby (Ridker i wsp., 1997; Carlsson i wsp., 1997; Kekomaki i wsp., 1999). Także zbiorcza metaanaliza badań u chorych bez rozróżniania etiologii udaru nie wykazała związku między allelem A2 a ryzykiem udaru niedokrwinnego (Casas i wsp., 2004). Dopiero wybiórcza analiza chorych tylko z objawową chorobą dużych naczyń potwierdziła znaczenie tego allelu tylko w tej chorobie (Streifler i wsp., 2001; Slowik i wsp., 2005).

Spośród różnych etiologii udaru niedokrwinnego tylko choroba dużych naczyń charakteryzuje się patofizjologią podobną do choroby wieńcowej i zawału serca (Drouet, 2002). Zarówno udar niedokrwienno spowodowany chorobą dużych naczyń, jak i zawał mięśnia sercowego są skutkiem tworzenia się bogatego w płytki krwi zakrzepu w miejscu pęknięcia blaszki miażdżycowej (Drouet, 2002).

Glikoproteina Ib bierze udział w procesie adhezji i aktywacji płytek. W obrębie genu dla GpIb wyróżnia

się trzy miejsca polimorficzne, tzn. Thr/Met 145, polimorfizm charakteryzujący się różną liczbą powtórzeń 39 par zasad (VNTR) i polimorfizm -5 T/C (tzw. Kozak polimorfizm). Metaanaliza badań oceniających znaczenie tych polimorfizmów w udarze niedokrwinnym, bez uwzględniania jego etiologii, wykazała, że żaden z tych polimorfizmów nie jest czynnikiem ryzyka udaru niedokrwinnego mózgu (Casas i wsp., 2004).

Glikoproteina Ia/IIa jest receptorem dla kolagenu. Dwa allele genu *GpIa*, tzn. C807 i T807, są związane z odpowiednio małą i dużą gęstością receptora GpIa/IIa oraz z wolniejszą i szybszą adhezją płytek do kolagenu. Polimorfizm C807T jest w równowadze sprzężeń z innym polimorfizmem glikoproteiny GpIIa, tzn. z polimorfizmem G873A. Allel T występuje u ok. 30% populacji rasy białej. Dotychczasowe badania na ten temat nie wykazały znaczenia tego polimorfizmu dla ryzyka udaru niedokrwinnego mózgu.

Badania genetycznych wariantów białek kaskady krzepnięcia w większości skupione były na analizie znaczenia polimorfizmów czynnościowych czynnika VII i fibrynogenu. Metaanaliza badań u chorych bez rozróżniania etiologii udaru niedokrwinnego nie wykazała związku, najczęściej badanego polimorfizmu, A1/A2 czynnika VII, z ryzykiem udaru niedokrwinnego mózgu (Casas i wsp., 2004).

Fibrynogen jest glikoproteiną zaangażowaną w proces aterogenezy, trombogenezy i zapalenie. Geny kodujące cząsteczkę fibrynogenu znajdują się na chromosomie 4q23-q32. Stężenie fibrynogenu zwiększa się w przypadku obecności konwencjonalnych czynników ryzyka, np. palenia papierosów, jest również zdeterminowany genetycznie, np. przez najczęściej badany polimorfizm G/A w pozycji -455 (Lim i wsp., 2003).

Zwiększone stężenie fibrynogenu jest uznanym czynnikiem ryzyka udaru niedokrwinnego mózgu. Natomiast tylko nieliczne badania oceniające znaczenie polimorfizmu G/A -455 genu fibrynogenu wykazały powiązanie między allelem A a ryzykiem udaru; np. Martiskainen i wsp. stwierdzili, że jest to czynnik ryzyka mnogich udarów lakunarnych (Martiskainen i wsp., 2003), a Kessler i wsp. – że jest to czynnik ryzyka udaru spowodowanego chorobą dużych naczyń (Kessler i wsp., 1997). Zachodzi pytanie, dlaczego duże stężenie fibrynogenu jest raczej niekwestionowanym czynnikiem ryzyka udaru niedokrwinnego mózgu, natomiast wariant genetyczny kontrolujący jego poziom w surowicy nie jest jednoznacznie potwierdzonym czynnikiem tego ryzyka. Prawdopodobnie to czynniki środowiskowe są głównym determinantem zwiększonego stężenia fibrynogenu. Nie można też wykluczyć, że genetyczne uwarunkowanie poziomu fibrynogenu nie wynika tylko z funkcji samego polimorfizmu G/A -455 genu fibrynogenu, ale z interakcji między różnymi polimorfizmami

fibrynogenu czy mutacją Val34Leu genu czynnika XIII (Lim i wsp., 2003).

Czynnik XIII jest proenzymem aktywowanym przez trombinę w końcowym etapie krzepnięcia. Stabilizuje on zakrzep poprzez tworzenie wiązań kowalencyjnych pomiędzy cząsteczkami fibryny oraz przez tworzenie wiązań krzyżowych między fibryną i innymi białkami, np. fibronektyną i kolagenem (Ichinose, 2001). Polimorfizm Val34Leu (walina34leucyna) genu czynnika XIII kontroluje stężenie aktywnego czynnika XIII. Osoby z allelem Leu charakteryzuje większe stężenie tego czynnika niż osoby, które nie mają tego allelu (Kangsadalampai, Board, 1998). Może to sugerować, że osoby z allelem Leu mają większą skłonność do nadmiernej krzepliwości. Badania eksperymentalne wskazują jednak, że obecność allelu Leu jest powiązana z właściwościami przeciwzakrzepowymi, co wynika z tworzenia nieprawidłowych wiązań krzyżowych w obrębie zakrzepu (Ariens i wsp., 2000). Znaczenie polimorfizmu Val34Leu czynnika XIII w udarze mózgu nie jest jasne. Metaanaliza badań bez uwzględniania etiologii udaru niedokrwienego nie wykazała związku tego polimorfizmu z udarem mózgu (OR = 0,97, 95% CI: 0,75–1,25, $p = 0,08$). Istnieją badania, w których wykazano, że polimorfizm Val34Leu ma znaczenie tylko dla ryzyka udaru lakunarnego. Obecność allelu Leu ma znaczenie protekcyjne jedynie dla izolowanego udaru lakunarnego (Elbaz i wsp., 2000).

Polimorfizm I/D genu enzymu konwertującego angiotensynę

Enzym konwertujący angiotensynę (ACE) jest odpowiedzialny za przekształcenie angiotensyny I w angiotensynę II; powoduje też inaktywację bradykininy.

ACE bierze udział w procesach miażdżycowych i przebudowie ścian naczyń (Niu i wsp., 2002). Gen dla tego enzymu znajduje się na chromosomie 17q23 i ma dwa polimorficzne allele zależne od obecności insercji (I) bądź delecji (D) sekwencji o długości 287 par zasad w obrębie intronu 16. Poziom ACE jest zdeterminowany przez ten polimorfizm. U osób z genotypem II stwierdza się najmniejsze stężenie (Rigat i wsp., 1990) i aktywność (Winkelmann i wsp., 1996) enzymu, a u osób z genotypem DD jego stężenie i aktywność są największe. Wykazano, że 47% zmian stężenia ACE w osoczu jest zależne od polimorfizmu I/D genu ACE (Rigat i wsp., 1990).

Metaanalizy badań (Sharma, 1998; Casas, 2004) oceniających rolę polimorfizmu genu ACE w udarze wykazały słabe, ale istotne statystycznie znaczenie obecności genotypu DD jako czynnika ryzyka udaru niedokrwienego mózgu bez względu na jego etiologię (OR = 1,21, 95% CI: 1,08–1,35).

Znaczenie tego polimorfizmu w samoistnym krwotoku śródmózgowym było, jak dotąd, badane dwukrotnie (Catto i wsp., 1996; Słowik i wsp., 2004). W pierwszym badaniu nie wykazano związku polimorfizmu I/D genu ACE z ryzykiem krwotoku śródmózgowego – w badaniu nie analizowano przyczyny krwotoku ani jego lokalizacji. W drugim badaniu wykazano związek tylko z krwotokiem samoistnym o lokalizacji głębokiej.

Analiza znaczenia polimorfizmu I/D genu ACE jako czynnika ryzyka krwotoku podopajęczynówkowego z pękniętego tętniaka była przedmiotem kilku badań (Keramati pour i wsp., 2000; Takenaka i wsp., 1998; Słowik i wsp., 2004). Większość z nich potwierdziła znaczenie allelu I genu ACE jako czynnika ryzyka tej choroby.

Badania na temat znaczenia polimorfizmu I/D genu ACE jako czynnika ryzyka krwotoku z pękniętego tętniaka w większości potwierdziły, że allel I jest zaangażowany w ryzyko tej choroby (Takenaka i wsp., 1998; Keramati pour i wsp., 2000; Słowik i wsp., 2004).

Tętniak naczyń mózgowych jest jedyną, jak dotąd znaną patologią, w której stwierdza się lokalne zmniejszenie aktywności elementów układu renina–angiotensyna, w tym ACE (Ohkuma i wsp., 2003). Mała aktywność tego enzymu powoduje wzrost poziomu bradykininy, która ma działanie rozszerzające naczynia (Niu, Chen, 2002) i w określonych warunkach, np. zwiększonego ciśnienia w naczyniach przy zmniejszonej oporności ich ścian, może sprzyjać tworzeniu się tętniaków. Nie badano jak dotąd, czy obniżenie lokalnej aktywności elementów układu renina–angiotensyna u osób z tętniakiem wynika z obecności genotypu II genu ACE. Nie można jednak wykluczyć, że taki związek istnieje. Teoretycznie przynajmniej pozwala to na wytłumaczenie związku między obecnością genotypu II genu ACE i ryzykiem tworzenia się tętniaków.

Polimorfizmy genów białek zaangażowanych w zapalenie

W ostatnich latach coraz więcej badań dokumentuje znaczenie polimorfizmów genów białek zaangażowanych w zapalenie jako czynników ryzyka udaru mózgu.

Najwięcej uwagi poświęcono ocenie znaczenia polimorfizmów interleukiny-6 (IL-6) interleukiny-1 (IL-1) oraz czynnika martwicy nowotworów alfa (ang. *Tumor Necrosis Factor- α* , TNF- α). Stwierdzono, że niektóre polimorfizmy tych cytokin, np. G/C –174 IL-6, A/T –511 IL-1 β czy G/A –308 TNF- α determinują poziom odpowiednich interleukin. W większości te badania, prowadzone bez rozróżniania etiologii udaru, nie wykazały związku z udarem (Dziedzic i wsp., 2004).

Ciekawe wyniki przyniosło wieloletnie prospektywne badanie, w którym grupa 14 916 mężczyzn była obserwowana pod kątem wystąpienia udaru niedokrwienego (Zee i wsp., 2004). Wykazało ono, że spośród 92 różnych polimorfizmów powiązanych z procesem zapalnym, miażdżycą i metabolizmem lipidów tylko polimorfizm val640Ileu genu P selektyny i C582T genu interleukiny 4 okazały się powiązane z ryzykiem udaru niedokrwienego mózgu.

Ostatnio pojawiła się koncepcja, że ryzyko udaru niedokrwienego zwielokrotnia się, jeśli pacjenci mają więcej niż jeden allel ryzyka genu zaangażowanego w proces zapalny. Na przykład autorzy włoscy wykazali, że nosicielstwo pojedynczego wariantu allelu prozapalnego zwiększa ryzyko udaru niedokrwienego 3,3 razy, a dwóch wariantów – 21 razy (Flex i wsp., 2004).

Badania przeprowadzone wśród pacjentów z różnymi etiologiami udaru mózgu wskazują, że allele genów białek prozapalnych zwiększają ryzyko tylko udaru spowodowanego chorobą małych naczyń (Dziedzic i wsp., 2005; Chamorro i wsp., 2003).

Wykazano to w odniesieniu do allelu C genu *IL-6* –174 czy allelu T genu *IL-1* –511. Ostatnio udokumentowano także, że polimorfizmy białek zapalenia są powiązane z ryzykiem krwotoku pod pajęczynówkowego z tętniaka (Słowik i wsp., 2005).

Polimorfizmy białek metabolizmu lipidów

Polimorfizm genu *ApoE*

Apolipoproteina E jest glikoproteiną produkowaną przez wątrobę, także przez neurony, astrocyty, makrofagi i monocyty. W surowicy wyróżnia się 3 izoformy tego białka: ApoE2, ApoE3, ApoE4. Główną funkcją tego białka jest transport cholesterolu i udział w metabolizmie lipoprotein. Gen apolipoproteiny E znajduje się na chromosomie 19 (19q13.2). Charakteryzują go 3 allele $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ i odpowiednio 6 genotypów. Częstość występowania poszczególnych alleli tego genu jest różna w poszczególnych populacjach (Gerders, 2003). Dwie metaanalizy oceniające znaczenie tego polimorfizmu w udarze niedokrwinnym mózgu bez uwzględniania jego etiologii dały wyniki negatywne (Casas i wsp., 2004; McCarron i wsp., 1999). Badanie *post mortem* natomiast wykazało dwukrotnie częstsze występowanie udarów niedokrwiniennych potwierdzonych autopsyjnie u nosicieli allelu $\epsilon 4$ (Schneider i wsp., 2005).

Analiza literatury pod kątem znaczenia polimorfizmu ApoE dla różnych etiologii udaru mózgu wskazuje, że allel $\epsilon 4$ jest czynnikiem ryzyka różnych fenotypów choroby

dużych naczyń, np. udaru w przebiegu choroby dużych naczyń (Kessler i wsp., 1997), miażdżycy tętnic szyjnych u mężczyzn z cukrzycą, a allel $\epsilon 2$ jest czynnikiem ryzyka zmian powiązanych z chorobą małych naczyń (zmian istoty białej i udarów lakunarnych w obrazie MRI) (Schmidt i wsp., 1997).

Interesujące są wyniki badań znaczenia tego polimorfizmu w samoistnych krwotokach śródmózgowych. Badania amerykańskie na stosunkowo dużym materiale wykazały, że allel $\epsilon 4$ lub $\epsilon 2$ jest czynnikiem ryzyka krwotoków płatowych (Woo i wsp., 2002) i nawrotu krwotoków płatowych (O'Donnell i wsp., 2000). Podobne wyniki uzyskano, analizując czynniki ryzyka mikrokrwotoków rozpoznawanych na podstawie badania w sekwencjach echa gradientowego MRI w czasie T2. Nieliczne badania sugerują również związek allelu $\epsilon 4$ z objawową angiopatią amyloidową (Greenberg i wsp., 1996).

Polimorfizmy paraoksonazy

Paraoksonazy to esterazy, które mają właściwości antyoksydacyjne. Znaczenie mają 3 paraoksonazy: paraoksonaza-1,2,3 (PON1), (PON2) i (PON3). PON1 jest m.in. odpowiedzialna za protekcję niskocząsteczkowych lipoprotein (LDL) przed oksydacją. Znaczenie PON2 jest mało poznane. Geny dla paraoksonaz znajdują się na chromosomie 7q21.3-q22.1. Polimorfizm Q192R i L55M genu *PON1* oraz C311S genu *PON2* kontrolują aktywność białek PON (Li i wsp., 2003). Badania w większości potwierdzają, że allel R polimorfizmu Q192R genu *PON1* istotnie zwiększa ryzyko udaru niedokrwienego mózgu (Ranade i wsp., 2005; Voetsch i wsp., 2002).

Interakcje genetycznych czynników ryzyka

W literaturze pojawia się coraz więcej badań wskazujących na istnienie interakcji między różnymi polimorfizmami modyfikującymi funkcję białek zaangażowanych w patofizjologię udaru niedokrwienego i konwencjonalnymi czynnikami ryzyka, takimi jak palenie papierosów czy nadciśnienie.

I tak, wykazano, że kobiety palące będące heterozygotami mutacji czynnika V Leiden mają ryzyko udaru niedokrwienego aż 8 razy większe w porównaniu z kobietami, które nie palą i nie są nosicielkami tej mutacji. Dwukrotny wzrost ryzyka udaru niedokrwienego mózgu stwierdzono również u młodych osób palących z genotypem $\epsilon 3\epsilon 4$ w porównaniu z osobami z genotypem $\epsilon 3\epsilon 3$ (Pezzini i wsp., 2004). Podobnie aż 15-krotny wzrost ry-

zyka udaru niedokrwiennego obserwowano u młodych osób (< 45. r.ż.), palących, z co najmniej dwoma genotypami ryzyka (allel A w pozycji 1691 mutacji czynnika V Leiden, genotyp TT677 genu MTHFR lub allel ϵ 4 genu APOE) w porównaniu z osobami niepalącymi i nieobciążonych tymi allelami. Przy współistnieniu nadciśnienia tętniczego i co najmniej dwu z wyżej wymienionych alleli ryzyka niebezpieczeństwo udaru wzrasta 10-krotnie (Pezzini i wsp., 2005).

Przeprowadzono również badania dokumentujące synergistyczny rezultat działania różnych genów ryzyka. Stwierdzono na przykład, że współistnienie genotypu GG genu *IL-6* -174 i genotypu EE genu *ICAM-1* aż 10-krotnie zwiększa ryzyko udaru niedokrwiennego, podczas gdy nosicielstwo tylko jednego z tych dwu genotypów ryzyka zwiększa ryzyko udaru mózgu odpowiednio 8 i 4 razy (Pola i wsp., 2003). Badanie na populacji włoskiej wykazało, że ryzyko udaru u osoby z co najmniej dwoma allelami genów prozapalnych wzrasta 6-krotnie w porównaniu z osobami, które mają tylko jeden taki allel, natomiast u nosicieli 3 takich alleli ryzyko udaru wzrasta aż 13 razy (Flex i wsp., 2004).

Znaczenie badań genetycznych w terapii udaru mózgu

Wyodrębnienie genetycznych czynników ryzyka udaru mózgu pozwoli na określanie indywidualnej, uwarunkowanej genetycznie skuteczności oraz bezpieczeństwa leków stosowanych powszechnie w leczeniu udaru.

Coraz więcej badań dowodzi, że tak właśnie dzieje się w odniesieniu do stosowanej w udarze mózgu terapii rtPA, lekami przeciwzakrzepowymi, antyagregacyjnymi, statynami czy inhibitorami ACE. W odniesieniu do terapii rtPA takim genetycznym czynnikiem determinującym skuteczność tego leczenia może być polimorfizm metaloproteiny-9 i inhibitora-1 aktywatora plazminogenu. Acenokumarol (warfaryna) jest lekiem stosowanym w prewencji pierwotnej i wtórnej udaru niedokrwiennego mózgu. Lek ten jest metabolizowany w wątrobie przez cytochrom p450 (CYP2C9). Badania kliniczne wykazały, że osoby z obecnością allelu 2 lub allelu 3 genu *CYP2C9* charakteryzuje znacznie mniejsze zapotrzebowanie na warfarynę (Goldstein, 2001). Zastosowanie standardowej dawki warfaryny u tych osób znacznie zwiększa ryzyko powikłań krwotocznych. Obecnie prowadzone są badania nad przesiewowym testem oceniającym genotyp *CYP2C9* do zastosowania u osób leczonych warfaryną. Wpływ na skuteczność warfaryny ma również mutacja w obrębie propeptydu czynnika IX.

Leki antyagregacyjne powszechnie stosuje się w leczeniu udaru mózgu. Są jednak skuteczne tylko u 30% leczonych. Powodem tego może być wpływ polimorfizmów receptorów płytkowych na ich funkcję. Istnieją doniesienia sugerujące zależność antyagregacyjnego działania kwasu acetylosalicylowego (ASA) od polimorfizmu A1/A2 genu *GpIIb* i polimorfizmu Val34Leu genu czynnika XIII. Wykazano na przykład większą oporność na antyagregacyjne działanie ASA u osób z genotypem z allelem A2 (Undas i wsp., 2001). Sugeruje to zasadność badań nad stosowaniem innych niż ASA leków antyagregacyjnych u osób z tym genotypem. Na podstawie podobnych przesłanek, tzn. różnego działania antyagregacyjnego ASA w zależności od polimorfizmu Val34Leu genu czynnika XIII, istnieje również zasadność badań oceniających znaczenie ASA w zależności od tego polimorfizmu (Undas i wsp., 2003).

Wyniki badań wskazują, że skuteczność inhibitorów ACE jest zależna od polimorfizmu I/D genu *ACE* i jest największa u nosicieli genotypu DD. Badania wskazujące na istotną rolę genotypu DD genu *ACE* jako czynnika ryzyka samoistnego krwotoku śródmózgowego, rozważane łącznie z wynikami badania PROGRESS (PROGRESS Collaborative Group, 2001), sugerują, że inhibitory ACE spośród wielu grup leków obniżających ciśnienie tętnicze, mających udokumentowane znaczenie w profilaktyce udaru, mogą okazać się najbardziej skuteczne w profilaktyce samoistnego krwotoku śródmózgowego u osób z genotypem DD. Stwierdzenie, że genotyp II genu *ACE* jest czynnikiem ryzyka krwotoku podpajęczynówkowego z pękniętego tętniaka, pozwala sądzić, że leczenie nadciśnienia tętniczego, najważniejszego modyfikowalnego czynnika ryzyka tej choroby, nie powinno być prowadzone za pomocą inhibitora ACE u osób z genotypem II. Szczególnie w tej grupie chorych korzystny efekt redukcji ciśnienia tętniczego może być okupiony zwiększoną skłonnością do poszerzania naczyń i tworzenia lub powiększania się tętniaka.

Powiązanie ryzyka udaru spowodowanego chorobą małych naczyń czy krwotoku podpajęczynówkowego z tętniaka z polimorfizmami genów prozapalnych sugeruje, że w prewencji tych chorób szczególnie przydatne mogą okazać się statyny (Licastro i wsp., 2000). Podejrzewa się, że udokumentowana niedawno w profilaktyce chorób naczyniowych, w tym udaru, skuteczność statyn wynika także z ich działania przeciwzapalnego.

Podsumowanie

Wydaje się, że w przyszłości badania genetycznych czynników ryzyka będą ukierunkowane w znacznie większym stopniu niż dotychczas na badanie interakcji polimorfizmów ryzyka między sobą oraz z konwencjonalnymi czynnikami ryzyka, a także na możliwości terapii/prewencji udaru w zależności od konkretnego układu czynników ryzyka, zarówno genetycznych, jak i konwencjonalnych. Już teraz coraz więcej badań dowodzi, że farmakogenetyka będzie coraz powszechniejszym sposobem postępowania u chorych, także z udarem mózgu.

Drugim kierunkiem badań nad genetyką udaru mózgu, obecnie rozwijanym bardziej w warunkach eksperymentalnych, będzie terapia genowa.

Piśmiennictwo

- Ariens R.A., Philippou H., Nagaswami C., Weisel J.W., Lane D.A., Grant P.J. (2000), *The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects cross-linked fibrin structure*. Blood, 96, 988–995.
- Brass L.M., Isaacsohn J.L., Merikangas K.R., Robinette C.D. (1992), *A study of twins and stroke*. Stroke, 23, 221–223.
- Brass L.M., Page W.F., Lichtman J.H. (1998), *Stroke in twins III: a follow-up study (abstract)*. Stroke, 29, suppl., 256.
- Broderick J.P., Viscoli C.M., Brott T., Brass L.M., Feldmann E., Morgenstern L.B., Wilterdink J.L., Horowitz R.I. (2003), *Hemorrhagic Stroke Project Investigators. Major risk factors for aneurysmal subarachnoid hemorrhage in the young are modifiable*. Stroke, 34, 1375–381.
- Calvete J.J. (1994), *Clues for understanding the structure and function of a prototypic human integrin: the platelet glycoprotein IIb/IIIa complex*. Thromb. Haemost., 72, 1–15.
- Carlsson L.E., Greinacher A., Spitzer C., Walther R., Kessler C. (1997), *Polymorphisms of the human platelet antigens HPA-1, HPA-2, HPA-3, and HPA-5 on the platelet receptors for fibrinogen (GPIIb/IIIa), von Willebrand factor (GPIb/IX), and collagen (GPIa/IIa) are not correlated with an increased risk for stroke*. Stroke, 28, 1392–1395.
- Casas J.P., Hingorani A.D., Bautista L.E., Sharma P. (2004), *Meta-analysis of genetic studies in ischemic stroke*. Arch. Neurol., 61, 1652–1662.
- Catto A., Carter A.M., Barrett J.H., Stickland M., Bamford J., Davies A., et al. (1996), *Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism in cerebrovascular disease*. Stroke, 27, 435–440.
- Catto A.J., Kohler H.P., Bannan S., Stickland M., Carter A., Grant P.J. (1998), *Factor XIII Val 34 Leu: a novel association with primary intracerebral hemorrhage*. Stroke, 29, 813–816.
- Chamorro A., Revilla M., Obach V., Vargas M., Planas A.M. (2005), *The -174 G/C polymorphism of the interleukin 6 gene is a hallmark of lacunar stroke and not other ischemic stroke phenotype*. Cerebrovasc. Dis., 19, 91–95.
- Diaz Buschmann C., Ruiz Falco M.L., Tamariz Martel Moreno A., Garcia Penas J.J., Gutierrez Solana L.G., Perez Jimenez A., Marin C. (2004), *Repeated cerebral infarction in a patient with Duchenne's muscular dystrophy*. Rev. Neurol., 38, 533–536.
- Dichgans M., Markus H.S. (2005), *Genetic association studies in stroke: methodological issues and proposed standard criteria*. Stroke, 36, 2027–2031.
- Drouet L. (2002), *Atherothrombosis as a systemic disease*. Cerebrovasc. Dis., 13, Suppl. 1, 1–6.
- Dziedzic T., Slowik A., Pera J., Szczudlik A. (2005), *Interleukin 1 beta polymorphism (-511) and risk of stroke due to small vessel disease*. Cerebrovasc. Dis., 20, 299–303.
- Dziedzic T., Slowik A., Pera J., Szczudlik A. (2004), *Lack of association between interleukin-1 beta polymorphism (-511) and ischemic stroke*. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, 75, 170–171.
- Ekinci E.I., Donnan G.A. (2004), *Neurological manifestations of cardiac myxoma: a review of the literature and report of cases*. Intern. Med. J., 34, 243–249.
- Elbaz A., Poirier O., Canaple S., Chedru F., Cambien F., Amarenco P. (2000), *The association between the Val34Leu polymorphism in the factor XIII gene and brain infarction*. Blood, 95, 586–591.
- Flex A., Gaetani E., Papaleo P., Straface J., Proia A.S., Pecorini G., Tondi P., Pola P., Pola R. (2004), *Proinflammatory genetic profiles in subjects with history of ischemic stroke*. Stroke, 35, 2270–2275.
- Gerders L.U. (2003), *The common polymorphism of apolipoprotein E: Geographical aspects and new pathophysiological relation*. Clin. Chem. Lab. Med., 41, 628–631.
- Goerss J.B., Michels V.V., Burnett J., Driscoll D.J., Miller F., Rodeheffer R., Tajik A.J., Schaid D. (1995), *Frequency of familial dilated cardiomyopathy*. Eur. Heart J., 16, Suppl. O, 2–4.
- Goldstein J.A. (2001), *Clinical relevance of genetic polymorphisms in human CYP2C subfamily*. Br. J. Clin. Pharmacol., 52, 349–355.
- Graffagnino C., Gasecki A.P., Doig G.S., Hachinski V.C. (1994), *The importance of family history in cerebrovascular disease*. Stroke, 25, 1599–1604.
- Greenberg S.M., Briggs M.E., Hyman B.T., Kokoris G.J., Takis C., Pessin M.S. (1996), *Apolipoprotein E ε4 is associated with the presence and earlier onset of hemorrhage in cerebral amyloid angiopathy*. Stroke, 27, 1333–1337.
- Gretarsdottir S., Thorleifsson G., Reynisdottir S.T., Manolescu A., Jonsdottir S., Jonsdottir T., Gudmundsdottir T., Bjarnadottir S.M., Einarsson O.B., Gudjonsdottir H.M., Hawkins M., Gudmundsson G., Gudmundsdottir H., Andrasen H., Gudmundsdottir A.S., Sigurdardottir M., Chou T.T., Nahmias J., Goss S., Sveinbjornsdottir S., Valdimarsson E.M., Jakobsson F., Agnarsson U., Gudnason V., Thorgeirsson G., Fingerle J., Gurney M., Gudbjartsson D., Frigge M.L., Kong A., Stefansson K., Gulcher J.R. (2003), *The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke*. Nat. Genet., 35, 131–138.
- Hassan A., Markus H.S. (2000), *Genetics and ischaemic stroke*. Brain, 123, 1784–1812.
- Ichinose A. (2001), *Physiology and regulation of factor XIII*. Thromb. Haemost., 86, 57–65.
- Indolfi C., Avvedimento E.V., Di Lorenzo E., Esposito G., Rapacciuolo A., Giuliano P., Grieco D., Cavuto L., Stingone A.M., Ciullo I., Condorelli G., Chiariello M. (1997), *Activation of cAMP-PKA signaling in vivo inhibits smooth muscle cell proliferation induced by vascular injury*. Nat. Med., 3, 775–779.

- Jerrard-Dunne P., Cloud G., Hassan A., Markus H.S. (2003), *Evaluating the genetic component of ischemic stroke subtypes: a family history study*. Stroke, 34, 1364–1369.
- Jousilahti P., Rastenyte D., Tuomilehto J., Sarti C., Vartiainen E. (1997), *Parental history of cardiovascular disease and risk of stroke. A prospective follow-up of 14371 middle-aged men and women in Finland*. Stroke, 28, 1361–1366.
- Joutel A., Corpechot C., Ducros A., Vahedi K., Chabriat H., Mouton P., Alamowitch S., Domenga V., Cecillion M., Marechal E., Maciazek J., Vayssiere C., Cruaud C., Cabanis E.A., Ruchoux M.M., Weissenbach J., Bach J.F., Boussier M.G., Tournier-Lasserre E. (1997), *Notch3 mutations in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL), a mendelian condition causing stroke and vascular dementia*. Ann. NY Acad. Sci., 826, 213–217.
- Joutel A., Tournier-Lasserre E. (1998), *Notch signalling pathway and human diseases*. Rev. Semin. Cell. Dev. Biol., 9, 619–625.
- Kalaria R.N., Viitanen M., Kalimo H., Dichgans M., Tabira T. (2004), *CADASIL Group of Vas-Cog. The pathogenesis of CADASIL: an update*. J. Neurol. Sci., 226, 35–39.
- Kangsadalampai S., Board P.G. (1998), *The Val34Leu polymorphism in the A subunit of coagulation factor XIII contributes to the large normal range in activity and demonstrates that the activation peptide plays a role in catalytic activity*. Blood, 92, 2766–2770.
- Kekomaki S., Hamalainen L., Kauppinen-Makelin R., Palomaki H., Kaste M., Kontula K. (1999), *Genetic polymorphism of platelet glycoprotein IIIa in patients with acute myocardial infarction and acute ischaemic stroke*. J. Cardiovasc. Risk., 6, 13–17.
- Keramati-pour M., McConnell R.S., Kirkpatrick P., Tebbs S., Furlong R.A., Rubinstein D.C. (2000), *The ACE I allele is associated with increased risk for ruptured intracranial aneurysms*. J. Med. Genet., 37, 498–500.
- Kessler C., Spitzer C., Stauske D., Mende S., Stadlmüller J., Walther R., Rettig R. (1997), *The apolipoprotein E and beta-fibrinogen G/A-455 gene polymorphisms are associated with ischemic stroke involving large-vessel disease*. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 17, 2880–2884.
- Kiely D.K., Wolf P.A., Cupples L.A., Beiser A.S., Myers R.H. (1993), *Familial aggregation of stroke. The Framingham Study*. Stroke, 24, 1366–1371.
- Lalouschek W., Schillinger M., Hsieh K., Endler G., Tenschert S., Lang W., Cheng S., Mannhalter C. (2005), *Matched case-control study on factor V Leiden and the prothrombin G20210A mutation in patients with ischemic stroke/transient ischemic attack up to the age of 60 years*. Stroke, 36, 1405–1409.
- Li H.L., Liu D.P., Liang C.C. (2003), *Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases*. J. Mol. Med., 81, 766–779.
- Licastro F., Pedrini S., Ferri C., Casadei V., Govoni M., Pession A., Sciacca F.L., Veglia F., Annoni G., Bonafe M., Olivieri F., Franceschi C., Grimaldi L.M. (2000), *Gene polymorphism affecting alpha1-antichymotrypsin and interleukin-1 plasma levels increases Alzheimer's disease risk*. Ann. Neurol., 48, 388–391.
- Lim B.C., Ariens R.A., Carter A.M., Weisel J.W., Grant P.J. (2003), *Genetic regulation of fibrin structure and function: complex gene-environment interactions may modulate vascular risk*. Lancet, 361, 1424–1431.
- Lyman S., Aster R.H., Visentin G.P., Newman P.J. (1990), *Polymorphism of human platelet membrane glycoprotein IIb associated with the Baka/Bakb alloantigen system*. Blood, 75, 2343–2348.
- MacDermot K.D., Holmes A., Miners A.H. (2001), *Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 98 hemizygous males*. J. Med. Genet., 38, 750–760.
- Markus H.S., Martin R.J., Simpson M.A., Dong Y.B., Ali N., Crosby A.H., Powell J.F. (2002), *Diagnostic strategies in CADASIL*. Neurology, 59, 1134–1138.
- Martiskainen M., Pohjasvaara T., Mikkelsen J., Mantyla R., Kunnas T., Laippala P., Ilveskoski E., Kaste M., Karhunen P.J., Erkinjuntti T. (2003), *Fibrinogen gene promoter -455 A allele as a risk factor for lacunar stroke*. Stroke, 34, 886–891.
- Masson C., Cisse I., Simon V., Insalaco P., Audran M. (2004), *Fabry disease: a review*. Joint Bone Spine, 71, 381–383.
- McCarron M.O., Delong D., Alberts M.J. (1999), *Apo E genotype as a risk factor for ischemic cerebrovascular disease: a meta-analysis*. Neurology, 53, 1308–1311.
- Meschia J.F., Brott T.G., Brown R.D. Jr. (2005), *Genetics of cerebrovascular disorders*. Mayo Clin. Proc., 80, 122–132.
- Mudd S.H., Skovby F., Levy H.L., Pettigrew K.D., Wilcken B., Pyeritz R.E., Andria G., Boers G.H., Bromberg I.L., Cerone R. (1985), *The natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency*. Am. J. Hum. Genet., 37, 1–31.
- Munke M., Kraus J.P., Ohura T., Francke U. (1988), *The gene for cystathionine beta-synthase (CBS) maps to the subtelomeric region on human chromosome 21q and to proximal mouse chromosome 17*. Am. J. Hum. Genet., 42, 550–559.
- Niu T., Chen X., Xu X. (2002), *Angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and cardiovascular disease*. Drugs, 62, 977–993.
- Norrving B. (2003), *Long-term prognosis after lacunar infarction*. Lancet Neurol., 2, 238–245.
- North K.N., Whiteman D.A., Pepin M.G., Byers P.H. (1995), *Cerebrovascular complications in Ehlers-Danlos syndrome type IV*. Ann. Neurol., 38, 960–964.
- O'Donnell H.C., Rosand J., Knudsen K.A., Furie K.L., Segal A.Z., Chiu R.I., Ikeda D., Greenberg S.M. (2000), *Apolipoprotein E genotype and the risk of recurrent lobar intracerebral hemorrhage*. N. Engl. J. Med., 342, 240–245.
- Oberti C., Wang L., Li L., Dong J., Rao S., Du W., Wang Q. (2004), *Genome-wide linkage scan identifies a novel genetic locus on chromosome 5p13 for neonatal atrial fibrillation associated with sudden death and variable cardiomyopathy*. Circulation, 110, 3753–3759.
- Ohkuma H., Suzuki S., Fujita S., Nakamura W. (2003), *Role of a decreased expression of the local renin-angiotensin system in the etiology of cerebral aneurysms*. Circulation, 108, 785–787.
- Okamoto K., Horisawa R., Kawamura T., Asai A., Ogino M., Takagi T., Ohno Y. (2003), *Family history and risk of subarachnoid hemorrhage: a case-control study in Nagoya, Japan*. Stroke, 34, 422–426.
- Onda H., Kasuya H., Yoneyama T., Takakura K., Hori T., Takeda J., Nakajima T., Inoue I. (2001), *Genomewide-linkage and haplotype-association studies map intracranial aneurysm to chromosome 7q11*. Am. J. Hum. Genet., 69, 804–819.
- Ophoff R.A., DeYoung J., Service S.K. (2001), *Hereditary vascular retinopathy, cerebral vasculopathy, and hereditary endotheliopathy with retinopathy, nephropathy, and stroke map to a single locus on chromosome 3p21.1-21.3*. Am. J. Hum. Genet., 69, 447–453.

- Pan X., Arauz E., Krzanowski J.J., Fitzpatrick D.F., Polson J.B. (1994), *Synergistic interactions between selective pharmacological inhibitors of phosphodiesterase isozyme families PDE III and PDE IV to attenuate proliferation of rat vascular smooth muscle cells*. *Biochem. Pharmacol.*, 48, 827–835.
- Palmer D., Tsoi K., Maurice D. (1998), *Synergistic inhibition of vascular smooth muscle cell migration by phosphodiesterase 3 and phosphodiesterase 4 inhibitors*. *Circ. Res.*, 82, 852–861.
- Pezzini A., Grassi M., Del Zotto E., Archetti S., Spezi R., Vergani V., Assanelli D., Caimi L., Padovani A. (2005), *Cumulative effect of predisposing genotypes and their interaction with modifiable factors on the risk of ischemic stroke in young adults*. *Stroke*, 36, 533–539.
- Pezzini A., Grassi M., Del Zotto E., Bazzoli E., Archetti S., Deodato A., Akkawi N.M., Albertini A., Padovani A. (2004), *Synergistic effect of apolipoprotein E polymorphism and cigarette smoking on risk of ischemic stroke in young adults*. *Stroke*, 35, 438–442.
- Pola R., Flex A., Gaetani E., Flore R., Serricchio M., Pola P. (2003), *Synergistic effect of -174 G/C polymorphism of the interleukin-6 gene promoter and 469 E/K polymorphism of the intercellular adhesion molecule-1 gene in Italian patients with history of ischemic stroke*. *Stroke*, 34, 881–885.
- PROGRESS Collaborative Group (2001), *Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering-regimen among 6105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack*. *Lancet*, 358, 1033–1041.
- Ranade K., Kirchgessner T.G., Iakoubova O.A., Devlin J.J., DelMonte T., Vishnupad P., Hui L., Tsuchihashi Z., Sacks F.M., Sabatine M.S., Braunwald E., White T.J., Shaw P.M., Dracopoli N.C. (2005), *Evaluation of paraoxonases as candidate genes for stroke: Gln192Arg polymorphism in the paraoxonase-1 gene is associated with increased risk of stroke*. *Stroke*, 36, 2346–2350.
- Reiner A.P., Siscovick D.S., Rosendaal F.R. (2001), *Platelet glycoprotein gene polymorphisms and risk of thrombosis: facts and fancies*. *Rev. Clin. Exp. Hematol.*, 5, 262–287.
- Ridker P.M., Hennekens C.H., Schmitz C., Stampfer M.J., Lindpaintner K. (1997), *PIA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis*. *Lancet*, 349, 385–388.
- Rigat B., Hubert C., Alhenc-Gelas F., Cambien F., Corvol P., Soubrier F. (1990), *An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half of the variance of serum enzyme levels*. *J. Clin. Invest.*, 86, 1343–1346.
- Schmidt R., Schmidt H., Fazekas F., Schumacher M., Niederkorn K., Kapeller P., Weinrauch V., Kostner G.M. (1997), *Apolipoprotein E polymorphism and silent microangiopathy related brain damage. Results of the Austrian Stroke Prevention Study*. *Stroke*, 28, 951–956.
- Schneider J.A., Bienias J.L., Wilson R.S., Berry-Kravis E., Evans D.A., Bennett D.A. (2005), *The apolipoprotein E $\epsilon 4$ allele increases the odds of chronic cerebral infarction detected on autopsy in older persons*. *Stroke*, 36, 954–959.
- Sharma P. (1998), *Meta-analysis of the ACE gene in ischaemic stroke*. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 64, 227–230.
- Slowik A., Borratynska A., Pera J., Betlej M., Dziedzic T., Krzyszkowski T., Czepko R., Figlewicz D.A., Szczudlik A. (2004), *II Genotype of the angiotensin-converting enzyme gene increases the risk for subarachnoid hemorrhage from ruptured aneurysm*. *Stroke*, 35, 1594–1597.
- Slowik A., Borratynska A., Turaj W., Pera J., Dziedzic T., Figlewicz D.A., Betlej M., Krzyszkowski T., Czepko R., Szczudlik A. (2005), *Alpha-1 antichymotrypsin gene (SERPINA3) A/T polymorphism as a risk factor for aneurysmal subarachnoid hemorrhage*. *Stroke*, 36, 737–740.
- Slowik A., Dziedzic T., Pera J., Figlewicz D.A., Szczudlik A. (2005), *Coagulation factor XIII Val34Leu polymorphism in patients with small vessel disease or primary intercerebral hemorrhage (2005)*. *Cerebrovasc. Dis.*, 19, 165–170.
- Slowik A., Turaj W., Dziedzic T., Haefele A., Pera J., Glodzik-Sobańska L., Szermer P., Malecki M.T., Figlewicz D.A., Szczudlik A. (2004), *DD genotype of angiotensin converting enzyme gene is a risk factor for intercerebral hemorrhage*. *Neurology*, 63, 359–361.
- Streifler J.Y., Rosenberg N., Chetrit A., Eskaraev R., Sela B.A., Dardik R., Zivelin A., Ravid B., Davidson J., Seligsohn U., Inbal A. (2001), *Cerebrovascular events in patients with significant stenosis of the carotid artery are associated with hyperhomocysteinemia and platelet antigen-1 (Leu33Pro) polymorphism*. *Stroke*, 32, 2753–2758.
- Takenaka K., Yamakawa H., Sakai H., Yoshimura S., Murase S., Okumura A., Nakatani K., Kimura T., Nishimura Y., Yoshimi N., Sakai N. (1988), *Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism in intracranial saccular aneurysm individuals*. *Neurol. Res.*, 20, 607–611.
- Thomas H.R. (2001), *Hypercoagulability syndromes*. *Arch. Int. Med.*, 161, 2433–2439.
- Tournier-Lasserre E., Joutel A., Melki J., Weissenbach J., Lathrop G.M., Chabriat H., Mas J.L., Cabanis E.A., Baudrimont M., Maciazek J., Bach M.A., Bousser M.G. (1993), *Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy maps to chromosome 19q12*. *Nat. Genet.*, 3, 256–259.
- Touze E., Gauvrit J.Y. (2002), *National study group. Natural history of cervical arterial dissections. Review of the literature and preliminary results from a national study group*. *J. Neuroradiol.*, 29, 251–256.
- Undas A., Brummel K., Musial J., Mann K.G., Szczeklik A. (2001), *PI(A2) polymorphism of beta(3) integrins is associated with enhanced thrombin generation and impaired antithrombotic action of aspirin at the site of microvascular injury*. *Circulation*, 104, 2666–2672.
- Undas A., Sydor W.J., Brummel K., Musial J., Mann K.G., Szczeklik A. (2003), *Aspirin alters the cardioprotective effects of the factor XIII Val34Leu polymorphism*. *Circulation*, 107, 17–20.
- van den Boom, Lesnik S.A.J., Ferrari M.D., Haan J., van Buchem M.A. (2003), *Cerebral autosomal Dominant Arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: MRI imaging findings at different ages – 3rd – 6th decades*. *Radiology*, 229, 683–690.
- van der Voet M., Olson J.M., Kuivaniemi H., Dudek D.M., Skunca M., Ronkainen A., Niemela M., Jaaskelainen J., Hernesniemi J., Helin K., Leinonen E., Biswas M., Tromp G. (2004), *Intracranial aneurysms in Finnish families: confirmation of linkage and refinement of the interval to chromosome 19q13.3*. *Am. J. Hum. Genet.*, 74, 564–571.
- Voetsch B., Benke K.S., Damasceno B.P., Siqueira L.H., Loscalzo J. (2002), *Paraoxonase 192 Gln/Arg polymorphism: an independent risk factor for nonfatal arterial ischemic stroke among young adults*. *Stroke*, 33, 1459–1464.

- Winkelmann B.R., Nauck M., Klein B., Russ A.P., Bohm B.O., Siekmeier R. i wsp. (1996), *Deletion polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene is associated with increased plasma angiotensin-converting enzyme activity but not with increased risk for myocardial infarction and coronary artery disease*. Ann. Intern. Med., 125, 19–25.
- Woo D., Sauerbeck L.R., Kissela B.M., Khoury J.C., Szaflarski J.P., Gebel J., Shukla R., Pancioli A.M., Jauch E.C., Menon A.G., Deka R., Carrozzella J.A., Moomaw C.J., Fontaine R.N., Broderick J.P. (2002), *Genetic and environmental risk factors for intracerebral hemorrhage: preliminary results of a population-based study*. Stroke, 33, 1190–1195.
- Yap S. (2003), *Classical homocystinuria: vascular risk and its prevention*. J. Inherit. Metab. Dis., 26, 259–265.
- Zee R.Y.L., Cook N.R., Cheng S., Reynolds R., Erlich H.A., Lindpainter K., Ridker P.M. (2004), *Polymorphism in the P-selectin and interleukin-4 genes as determinants of stroke: a population-based, prospective genetic analysis*. Hum. Mol. Genet., 13, 389–396.